Ueber das

Verhalten einiger Säureimide im thierischen Organismus.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

einer

hohen philosophischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt

von

Fr. Koehne

aus Hannover.

Rostock.

Universitäts-Buchdruckerei von Adler's Erben.

1894.

Referent: Professor Dr. **Michaelis.**

Auf Veranlassung des Herrn Professor Dr. Nasse stellte Verfasser sich im Sommersemester 1891 die Aufgabe, Körper mit der Gruppe

$$NH\begin{cases}CO-\\CO-\end{cases}$$

auf ihr Verhalten im thierischen Organismus zu untersuchen.

Es sollen im Folgenden die Substanzen mit dieser Imidgruppe, wie auch auf dem Titel bereits geschehen ist, einfach als „Säureimide“ bezeichnet werden. Kann man sie doch alle betrachten als Derivate der freilich hypothetischen und vermuthlich auch als freie Säure nicht existenzfähigen Verbindung „Dicarbimidsäure“

$$NH\begin{cases}COOH\\COOH\end{cases}$$

aus dieser entstanden durch Substitution der Hydroxyle durch zwei einwerthige oder durch einen zweiwerthigen Molekülrest, oder auch durch gegenseitige Bindung der Carbonyle.

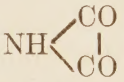
Bei allen Versuchen dienten als thierische Organismen Hunde, welche derartig abgerichtet waren, dass man den Harn von 24 Stunden ohne irgend welchen bemerkenswerthen Verlust erhalten konnte.

In den Fällen, wo quantitative Bestimmungen der Aetherschwefelsäuren und der Gesammtschwefel-

säuren auszuführen waren, ist die bekannte Methode von Salkowski benutzt worden; es geben die in den Tabellen aufgezeichneten Zahlen stets das Mittel gut stimmender Doppelanalysen an.

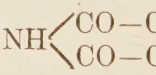
Viele der verfütterten Substanzen mussten, weil nicht käuflich, von mir dargestellt werden, die übrigen sind von C. A. F. Kahlbaum-Berlin oder E. Merck-Darmstadt bezogen.

Das einfachste der Imide obengenannter Formel wäre das Oxalimid



gewesen, welches erst seit einigen Jahren bekannt ist[1]). Von einer Untersuchung dieses Körpers musste indess abgesehen werden, da die Darstellung allzu mühevoll und die Ausbeute nach den bis dahin vorliegenden Erfahrungen sehr gering ist.

Das nächstliegende der Imide mit Alcoholradikalen an beiden Carboxylgruppen war das gewöhnlich als Diacetamid bezeichnete Acetimid oder Diacetylimid

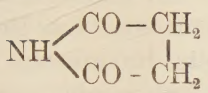


Dieses Präparat war nicht gleich zur Hand, weshalb mit der Untersuchung des Succinimid begonnen wurde, und da sich im Verlaufe der Arbeit die Resultate von Versuchen mit Acetimid voraussehen liessen, wurden dieselben auch nicht mehr angestellt, zumal die Darstellung grösserer Mengen von Diacetamid ebenfalls sehr umständlich ist.

---

[1]) Ost u. Mente, Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft XIX., pag. 3228.

Succinimid.



Es handelte sich hier zunächst darum, eine Methode ausfindig zu machen, nach welcher dem Harn zugesetztes Succinimid leicht wieder nachzuweisen war. Ich versuchte die Thatsache zu verwerthen, dass Succinimid in Aether löslich ist und durch Säuren nicht zerstört wird. Von letzterer Eigenschaft kann man sich dadurch überzeugen, dass man Succinimid mit verdünnter Salpetersäure eindampft, den Rückstand mit feuchtem kohlensaurem Baryum behandelt und dann mit Aether ausschüttelt. Aus dem verdunstenden Aether scheiden sich alsbald die Succinimidkrystalle unverändert aus, wie eine Schmelzpunktbestimmung zeigt.

Um zu erfahren, ob dem Harn zugesetztes Succinimid als solches wieder nachweisbar sei, wurden mehrere Versuche angestellt, indem je 1,0 g Succinimid ca. 500 ccm Harn zugefügt wurde.

Bei keinem dieser Versuche gelang es indess, das Succinimid als solches wieder zu erlangen. Dagegen wurde nach Erhitzen des Harns mit Barythydrat Bernsteinsäure in dem zugesetzten Succinimid annähernd entsprechender Menge erhalten.

Nach diesen Ergebnissen ist man somit auch beim Einführen von Succinimid in den Thierkörper darauf angewiesen, aus dem Harn zunächst etwa bereits vorhandene Bernsteinsäure zu entfernen und dann zu prüfen, ob beim Erhitzen des Harns mit Barythydrat Bernsteinsäure entsteht. Nur wenn dieses der Fall ist, wird man auf die Anwesenheit von Succinimid (oder Succinaminsäure?) im Harn schliessen dürfen.

Es wurde nun ein Hund drei Tage lang mit je 5,0 g Succinimid gefüttert. Das Befinden des Hundes blieb ungestört, die Harnmenge unverändert. Der Harn der drei Tage wurde unter Erhaltung der sauren Reaction durch Zufügen von verdünnter Salzsäure eingedampft, um eine Umwandlung des Succinimid in Succinaminsäure und weiter in Bernsteinsäure zu verhüten. Mittelst Barytwasser wurde der Harn sodann von Schwefelsäure und Phosphorsäure befreit, und der überschüssige Baryt vorsichtig mit Schwefelsäure entfernt. Die neutral reagirende, darauf durch Abdampfen wieder concentrirte Flüssigkeit wurde mit Schwefelsäure stark angesäuert, mit Aether mehrmals ausgeschüttelt, und der Rückstand, da sich nach Abdestilliren des Aethers keine Krystalle zeigten, auch noch mit Salpetersäure erwärmt. Da alles resultatlos verlief, der Harn frei von Bernsteinsäure war, konnte bei weiteren Versuchen von einer vorgängigen Behandlung des Harns mit Aether zum Zwecke der Entfernung von Bernsteinsäure abgesehen und sogleich an die Erhitzung mit Barythydrat gegangen werden. Die dann etwa gefundene Bernsteinsäure durfte man, wie in den Vorversuchen, als in den Harn übergegangenes Succinimid betrachten.

Dementsprechend wurde dann ein zweiter Versuch gemacht, in welchem ein Hund an drei auf einander folgenden Tagen je 7,5 g Succinimid erhielt. Der Harn wurde auf den dritten Theil eingedampft und darauf während mehrerer Stunden mit stets überschüssigem Barytwasser im Wasserbade erhitzt. Die vom Niederschlage abfiltrirte und dann eingedampfte Flüssigkeit wurde stark mit Schwefelsäure angesäuert und verschiedene Male mit Aether ausgeschüttelt.

Nach dem Abdestilliren des Aethers wurde der Rückstand mit Salpetersäure erwärmt, die ausgeschiedenen Krystalle gesammelt, abgepresst und

wiederholt aus ätherhaltigem Alcohol umkrystallisirt. Auf diese Weise war schliesslich eine geringe Menge ziemlich reiner Krystalle erhalten worden, welche sämmtliche Eigenschaften der Bernsteinsäure besassen. Ihr Schmelzpunkt lag bei 180—182° C., sie sublimirten mit ganz geringem Rückstande und gaben in wässriger Lösung auf Zusatz von neutralem essigsaurem Blei einen Niederschlag, der sich im Ueberschusse des essigsauren Bleis löste, beim Erhitzen aber in kleinen, schweren Kryställchen wieder ausfiel[1]).

Diese Versuche zeigen klar, dass ein freilich nur sehr kleiner Theil des in den Körper gebrachten Succinimids denselben unzersetzt passirt hat, von dem bei weitem grössten Theil des verfütterten Succinimids aber, welches als leicht lösliche Substanz sicher vollkommen resorbirt worden ist, anzunehmen ist, dass derselbe im Körper in Bernsteinsäure umgewandelt wurde. Dass die Bernsteinsäure aber im Thierkörper vollkommen zerstört wird, wissen wir aus den Untersuchungen von Baron von Longo[2]) und E. Baumann[3]), die ich nach meinen eigenen Versuchen und Beobachtungen in jeder Hinsicht bestätigen kann.

Von den nun folgenden Imiden der aromatischen Reihe wurde zunächst das

Dibenzamid

$$NH\begin{cases} CO-C_6H_5 \\ CO-C_6H_5 \end{cases}$$

Gegenstand weiterer Untersuchungen.

---

[1]) E. Salkowski, Pflüger's Archiv IV, p. 94. 1871.
[2]) Baron von Longo, Zeitschr. f. physiolog. Chemie I., pag. 214.
[3]) E. Baumann, ebendaselbst, Anmerkung.

Die Darstellung dieses Körpers folgte der von von Barth und Senhofer[1]) angegebenen Vorschrift: 7 Theile Benzonitril wurden mit 4 Theilen Phosphorpentoxyd und 7 Theilen concentrirtester Schwefelsäure versetzt, wobei das Gemisch allmälig sirupartig erstarrte. Nach Verlauf von einigen Stunden wurde Wasser in grossem Ueberschusse zugefügt, wodurch ein weisser flockiger Niederschlag entstand, welcher abfiltrirt und abgesogen wurde. Die heisse alkoholische Lösung dieses Niederschlages wurde im Wasserbade so lange mit Wasser versetzt, als keine Ausscheidung eintrat. Beim Erkalten schieden sich dann schöne farblose Krystallnadeln aus, welche getrocknet bei 146 -148° C. schmolzen und auch sonst alle Eigenschaften des Dibenzamid zeigten.

Da sich das Dibenzamid in Wasser kaum löst und somit die Resorption desselben eine sehr beschränkte gewesen wäre, musste zur Darstellung eines leicht löslichen Salzes geschritten werden. Die Wahl fiel hierbei auf die Natriumverbindung, deren Darstellungsweise ebenfalls von Barth und Senhofer angegeben ist. Dibenzamid wurde in geringem Ueberschuss mit verdünnter reiner (aus Natriummetall dargestellter) Natronlauge in der Kälte geschüttelt. Nach dem Abfiltriren des ungelösten Dibenzamid wurde das Filtrat unter dem Exsiccator concentrirt, wobei sich schimmernde Nadeln und Blättchen von Dibenzamidnatrium ausschieden, die sich in kaltem Wasser leicht lösten.

Von dieser Natriumverbindung bekam ein Hund 4,0 g in Gelatinekapseln. Nach ca. 4 Stunden jedoch stellten sich bei dem Thiere heftiges Erbrechen, Unsicherheit im Gange und Zittern des ganzen

[1]) Bericht d. deutsch. chem. Gesellschaft IX, p. 975.

Körpers ein. Genau dieselben Erscheinungen traten bei einem anderen Hunde auf nach Eingabe einer wässerigen Lösung von 4,0 g Dibenzamidnatrium mittelst Schlundsonde. Hiernach ist das Dibenzamidnatrium keineswegs indifferent.

Beim Herabsetzen der Tagesdose auf 2,0 g blieb das Befinden des Thieres ungestört. Die Ergebnisse der Untersuchung des Harns sind in der nachstehenden Tabelle I wiedergegeben, in der, wie in allen folgenden Tabellen, sich die Zahlen auf die 24 Stunden beziehen, in deren Beginn gleichzeitig mit dem täglichen Futter die betreffenden Substanzen in den Körper eingeführt wurden. Ein Normaltag des Versuchsthieres ist in jeder Tabelle mit angeführt.

Tabelle I.

Harnmenge in ccm.	a. $BaSO_4$ aus der Aetherschwefelsäure.	b. $BaSO_4$ aus der Gesammtschwefelsäure.	$\frac{a}{b} \cdot 100$ Prozentzahl der Aetherschwefelsäure von der Gesammtschwefelsäure.	Bemerkungen.
980	0,3214	4,2414	7,58	Normaltag.
995	0,3880	3,9223	9,89	2,0 g Dibenzamidnatrium.

Die Tabelle giebt offenbar keinen Aufschluss über das Verhalten des Dibenzamidnatrium im Organismus. Da das Dibenzamidnatrium in Aether löslich ist, wurde der Harn, um etwa unzersetztes Salz nachzuweisen, mit Aether wiederholt ausgeschüttelt, allein nach Verdunsten des letzteren

blieb kein Rückstand. Hierauf wurde der Harn eingedampft, mit Salzsäure stark angesäuert und von Neuem mit Aether ausgeschüttelt. Nach dem Abdestilliren des Aethers blieb eine ziemliche Menge feiner Krystallnadeln zurück, deren nähere Untersuchung — Reinigung durch Umkrystallisiren und Behandlung mit Salzsäure in der Wärme — ergab, dass Hippursäure vorlag. Den Krystallen der Hippursäure waren solche von Benzoësäure nicht beigemischt; es enthielt der Harn also weder benzoësaure Salze noch Dibenzamid, welch' letzteres, wie ich nach einer gütigen Mittheilung von Herrn Dr. Bülow weiss, durch die Salzsäure glatt in Benzoësäure und Chlorammonium gespalten wird.

Nach diesen Untersuchungen wird das Dibenzamid im Thierkörper zersetzt unter Bildung von Benzoësäure und diese als Hippursäure ausgeschieden. Das Verhalten des Dibenzamids im Thierkörper ist also ebendasselbe, wie das des Benzamids, welches nach den Untersuchungen von L. von Nencki[1]) und von Salkowski[2]) ebenfalls Hippursäure bezw. Benzoësäure liefert.

Hier ist es wohl angebracht, auf einen Unterschied der Amide der fetten und der aromatischen Reihe in Betreff ihres Verhaltens im Thierkörper aufmerksam zu machen. Während sich aus dem Benzamid Hippursäure bildet, erscheint das Acetamid[3]) unverändert im Harn wieder, was O. Schultzen und M. Nencki zu der Annahme veranlasst, dass sich sämmtliche Amide der fetten Reihe wie das Acetamid verhalten.

---

[1]) Archiv f. experim. Patholog. u. Pharmakolog. 1873. I., pag. 420.

[2]) Zeitschr. f. physiolog. Chemie I., pag. 45.

[3]) Archiv f. experim. Patholog. u. Pharmakolog. 1873. I, pag. 420.

Phtalimid.

Auch hier wurde, da das Phtalimid in Wasser sehr schwer löslich ist, das sehr leicht lösliche Natriumsalz dargestellt[1]): 13,7 g in Alcohol gelöstes Natriumhydroxyd wurden mit einer alcoholischen Lösung von 50 g Phtalimid gemischt, wobei eine geringe Erwärmung eintrat. Da beim Erkalten kein Niederschlag entstand, so wurde der klaren Lösung so lange Aether hinzugefügt, bis in dem Filtrate keine Ausscheidung mehr stattfand. Der Niederschlag, welcher ein feines, weisses, krystallinisches Pulver darstellte, wurde abfiltrirt, gepresst und über Schwefelsäure getrocknet.

Was die Eigenschaften des Phtalimidnatrium angeht, so muss der Arbeit von Landsberg[2]) gedacht werden, in welcher mitgetheilt wird, dass die Phtalimidsalze beim Behandeln mit Säuren Phtalimid wieder abscheiden. Um diese Angabe zu controliren, wurde eine wässrige Lösung des Phtalimidnatrium mit Salzsäure versetzt und, da sofort keine Ausscheidung eintrat, ca. 36 – 48 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. In dieser Zeit hatten sich ziemlich viele Kryställchen abgesetzt, welche gesammelt und getrocknet wurden: dieselben schmolzen unter 200 ° C. — der Schmelzpunkt des Phtalimids liegt bei 227 ° C. — und waren frei von Stickstoff. Schon vorher war ein Versuch angestellt worden, indem eine wässrige Lösung von Phtalimidnatrium mit Salzsäure versetzt und dann nach kurzer Zeit der Einwirkung mit Aether ausgeschüttelt war.

---

[1]) Liebig's Annalen 215, pag. 181.
[2]) Liebig's Annalen 215, pag. 181.

Nach Verdunsten des Aethers und wiederholtem Umkrystallisiren aus Aether und Alcohol schieden sich schöne, schimmernde Blättchen aus, welche aber ebenfalls stickstofffrei waren und zwischen 200 und 204° C. schmolzen. Hiernach würde also, conform dem Verhalten des Dibenzamidnatrium gegenüber von Säuren, das Phtalimidnatrium zersetzt und Phtalsäure entstanden sein, etwa nach folgender Gleichung:

$$NaN\begin{matrix}CO\\CO\end{matrix}C_6H_4 + 2\,HCl + 2\,H_2O =$$

$$C_6H_4\begin{matrix}CO-OH\\CO-OH\end{matrix} + NH_4Cl + NaCl.$$

Es ist daher wohl anzunehmen, dass Landsberg die aus der Phtalimidsalzlösung gefällten Krystalle nicht näher untersucht, sondern einfach für Phtalimid angesehen hat.

Die Versuche wurden an zwei Hunden mit verschiedenen Mengen Phtalimidnatrium angestellt. Ein Einfluss auf das Befinden war nicht zu bemerken. Die quantitative Bestimmung der Schwefelsäuren giebt nachstehende Tabelle wieder:

Tabelle II.

	Harnmenge in ccm.	a. $BaSO_4$ aus der Aetherschwefelsäure.	b. $BaSO_4$ aus der Gesammtschwefelsäure.	$\frac{a}{b} \cdot 100$	Bemerkungen.
Hund A	1190	1,1785	10,5338	11.19	Normaltag.
	1080	0,9029	9,6876	9,32	4,0 Phtalimidnatrium.
Hund B	1580	0,8342	5,7070	14,62	Normaltag.
	1300	0,5876	5,0804	11,56	6,0 Phtalimidnatrium.

In beiden Versuchen erscheint die Gesammtschwefelsäure wenig verändert, die Aetherschwefelsäuren aber haben eine Verminderung erfahren, welche auf eine geringe antiseptische Wirkung des Phtalimids zurückzuführen sein dürfte.

Der nach Bestimmungen der Schwefelsäuren verbliebene Harn wurde eingedampft, mit verdünnter Salzsäure versetzt und mit Aether ausgeschüttelt. Nach Verdunsten des Aethers blieb eine geringe Menge Krystalle zurück, welche ich durch Abpressen und Umkrystallisiren reinigte. Dieselben schmolzen unter theilweiser Zersetzung bei ca. 190 ° C., erwiesen sich als stickstofffrei und dürfen wohl als Phtalsäure angesehen werden.

Mag nun im Harn ursprünglich Phtalimidnatrium gewesen sein oder schon Phtalsäure, jedenfalls ist die Menge der gefundenen Phtalylverbindung nur sehr gering und demnach die Hauptmenge derselben im Thierkörper zerstört worden. Durch diese Eigenschaft unterscheidet sich das Phtalimid wesentlich von dem vorhergehenden Dibenzamid, indem letzteres zwar zersetzt, aber in Gestalt der Benzoësäure erhalten geblieben und als Benzoylglycocoll durch den Harn ausgeschieden ist, während das Phtalimid bezw. die Phtalsäure bis auf jenen kleinen Rest im Harn nicht wieder gefunden wurde.

Ueber die Zerstörbarkeit der Phtalsäure im Thierkörper hat schon Juvalta berichtet[1]); man wird aus dieser Thatsache aber um so weniger einen allgemeinen Schluss auf leichte Zerstörbarkeit des Benzolkerns im thierischen Organismus machen dürfen, als gerade die Phtalsäure auch extra corpus sehr leicht — so insbesondere durch Chromsäuregemisch[2]) — vollkommen zerstört werden kann. Die

[1]) Zeitschr. f. physiolog. Chemie XIII., pag. 26.

[2]) Fittig, Bieber, Annalen d. Chem. u. Pharm. 156, pag. 242.

meisten Benzolderivate werden, wie auch diese Arbeit zeigte, im Thierkörper nicht zerstört[1]). Ausser für die Phtalsäure und ihre nächsten Abkömmlinge ist die Verbrennung des Benzolkerns im Thierkörper noch festgestellt für gewisse Phenylverbindungen mit längeren Seitenketten (Phenylpropionsäuren und ganz besonders die Proteinkörper), vorausgesetzt, dass diese Substanzen nicht im Darmkanal durch die Fäulnissprocesse unter Abspaltung von echten aromatischen Säuren (Carboxyl direct dem Benzolring anliegend) oder Phenolen zerlegt werden.

Hier sei eines Säureimids gedacht, welches in der Formel eine grosse Aehnlichkeit mit dem Phtalimid zeigt, sich aber nach den vorliegenden Untersuchungen ganz anders als dieses im Organismus verhält. Es ist das

Saccharin (Benzoësäuresulfimid)

$$NH\begin{matrix}CO\\SO_2\end{matrix}C_6H_4$$

gemeint, welches zwar nicht in den vorhergesehenen Rahmen passt, aber aus obigen Gründen kurz erwähnt werden soll.

Salkowski[2]) fand nämlich nach Eingabe von 2.0 g Saccharin das Befinden des Hundes unverändert und eine geringe Verminderung der Aetherschwefelsäuren im Verhältniss zur präformirten Schwefelsäure, was er mit einer schwach antiseptischen Wirkung in Zusammenhang bringt. Der Harn besass nach Saccharingenuss einen süssen Geschmack.

---

[1]) Rendiconti della r. accad. dei Lincei V. 2. Sem., pag. 133; auch Archiv f. experim. Patholog. u. Pharmakolog. 26, pag. 267 bis 278.

[2]) Virchow's Archiv 105, pag. 46—62.

Auch nach V. Aducco und U. Mosso[1]) zeigte ein Hund, welcher innerhalb 10 Tagen 37,0 g Saccharin bekommen hatte, keinerlei Störungen, im Körpergewichte und der Zusammensetzung des Harns keine Aenderung. Die Chlorausscheidung nahm zu, das Saccharin ging unverändert in den Harn über.

Es folgt nun von Imiden, welche nicht als solche, sondern als zusammengesetzte Harnstoffe, und zwar als Ureïde, aufgeführt zu werden pflegen, der

Benzoylharnstoff

$$NH\begin{cases}CO-C_6H_5\\CO-NH_2\end{cases}$$

Diese Substanz wurde nach der Vorschrift von Zinin[2]) selbst dargestellt, indem 2 Aeq. reiner getrockneter Harnstoff und 1 Aeq. Benzoylchlorid bei 150 –155 ° C. im Paraffinbade so lange erhitzt wurden, bis der Harnstoff unter dem Benzoylchlorid geschmolzen war. Dann wurde die Mischung aus dem Bade genommen und tüchtig umgerührt, wobei sie unter Temperaturerhöhung erstarrte. Der nach dem Erkalten aus siedendem Alcohol umkrystallisirte Benzoylharnstoff schmolz bei 168 ° C.

An drei Tagen innerhalb einer Woche wurde derselbe Hund mit 2,0, 3,0 und 4,0 g dieser Substanz gefüttert. In dem Befinden des Thieres trat keine Störung ein.

Die Zahlen der quantitativen Analysen sind in folgender Tabelle mitgetheilt.

---

[1]) Centralblatt f. d. med. Wissensch. 1887, No. 17.

[2]) Annalen d. Chem. u. Pharm. 92, pag. 404.

Tabelle III.

Harnmenge.	a. $BaSO_4$ aus der Aetherschwefelsäure.	b. $BaSO_4$ aus der Gesammtschwefelsäure.	$\frac{a}{b} \cdot 100$	Bemerkungen.
1290	1,0857	9,5583	11,36	Normaltag.
1700	0,6256	6,0962	10,26	2,0 Benzoylharnstoff.
1800	0,8424	6,9696	12,09	3,0 Benzoylharnstoff.
1510	0,6946	5,0041	13,88	4,0 Benzoylharnstoff.

Auffallend ist in dieser Tabelle die Verminderung der beiden Schwefelsäuren.

Zur Ermittelung etwa entstandener Umsetzungsprodukte des Benzoylharnstoffs wurde der Rest des Harns der 3 Tage auf den dritten Theil eingedampft, mit Salzsäure versetzt und wiederholt mit Aether ausgeschüttelt. Nach Abdestilliren und Verdunsten des Aethers blieben zahlreiche stark gefärbte Krystalle zurück, welche mit Aether gereinigt und aus Alcohol umkrystallisirt bei ca. 180° C. schmolzen. Mit Salzsäure erhitzt lieferten sie Benzoësäure.

Es hatte somit eine vollkommene Zersetzung des Benzoylharnstoffs im Thierkörper stattgefunden und war das Zersetzungsprodukt, die Benzoësäure, dann mit dem Harn als Hippursäure ausgeschieden:

$$NH\begin{cases} CO - C_6H_5 \\ CO - NH_2 \end{cases} + H_2O = \begin{matrix} C_6H_5 \\ | \\ COOH \end{matrix} + CO\begin{cases} NH_2 \\ NH_2 \end{cases}$$

Die Untersuchung ging nun über zu der Allophansäure, der Aminsäure der im Anfang erwähnten hypothetischen Säure

$$NH\begin{cases} COOH \\ COOH \end{cases}$$

Da die Allophansäure aber selbst nicht existenzfähig ist, wurde der

Allophansäureäthylester

$$NH\begin{cases} CO - OC_2H_5 \\ CO - NH_2 \end{cases}$$

angewendet. Der Herstellung lag die von Amato[1]) gegebene Vorschrift zu Grunde: 50,0 g cyansaures Kalium wurden in 300 ccm Alcohol von 65 Grad Gay-Lussac gelöst, mit Salzsäure, welche durch Alcohol verdünnt war, bis zur sauren Reaction versetzt und dann, ohne den entstandenen Niederschlag von Chlorkalium zu berücksichtigen, 2 Tage lang am Rückflusskühler erwärmt. Nach dem Abdestilliren des Alcohols wurde der Rückstand mit Aether in kleinen Antheilen behandelt, worin sich fast der ganze Allophansäureäthylester allmälig löste. Die nach Verdunsten des Aethers erhaltenen Krystalle wurden zwischen Fliesspapier gepresst, aus heissem Wasser umkrystallisirt und im Vacuum getrocknet. Dieselben zeigten unter dem Mikroskope feine Nädelchen zu Warzen vereinigt und hatten den von Amato[2]) angegebenen Schmelzpunkt von 190° C.

Von diesem Allophansäureäthylester bekam ein Hund an 2 Tagen je 3,0 g. Das Befinden wurde nicht gestört, die Harnmenge war normal. Der Harn wurde sofort eingedampft und mit Aether wiederholt extrahirt, jedoch zeigten sich nach dem Verdunsten des Aethers keine Krystalle des Allophansäureäthylesters wieder.

Es wäre ja nun möglich gewesen, dass sich, analog dem Auftreten von Benzamid nach Eingabe

---

[1]) Jahresbericht über die Fortschritte der Chemie 1873, pag. 749.
[2]) a. o. a. O.

von Benzoësäure resp. Benzaldehyd[1]), Biuret wenigstens aus einem Theile des Allophansäureäthylesters gebildet hätte, indess dieses war auch nicht im Harn nachzuweisen. Ebenso resultatlos verlief der Versuch, nach Eindampfen des Harns auf ein kleines Volumen und Ansäuern mit Salzsäure eine Cyansäurereaction zu erhalten. Es ist daher wohl anzunehmen, dass der Allophansäureäthylester ähnlich anderen Estern im Körper gespalten worden ist durch fermentartige Kräfte, wie sie bekannt sind in Enzymen, besonders im Pankreasenzym und in den Geweben selbst. In letzterer Beziehung ist auf eine Mittheilung von O. Nasse in den Sitzungsberichten der Naturforschenden Gesellschaft zu Rostock (Sitzung vom 23. Febr. 1889) zu verweisen. Die auf bezeichnete Weise frei werdende Allophansäure ist dann, da solche nicht existenzfähig, sofort in Kohlensäureanhydrid und Harnstoff zerfallen.

Dass der Allophansäureäthylester übrigens nicht schon beim Eindampfen mit Harn zersetzt wird, zeigt folgender von mir angestellter Versuch: 1,0 g des Esters wurde in 1000 ccm Harn gelöst, der Harn auf ca. 200 ccm eingedampft und mit Aether extrahirt. Nach Abdestilliren des Aethers blieben Krystalle in

[1]) Cohn (Zeitschr. f. physiolog. Chemie XIV., pag. 203) fand nach allmäliger Eingabe von 100,0 g Benzaldehyd bei Hunden (nicht Kaninchen) im Harn ca. 4,0 g Benzamid und erklärt sich dieses dadurch, dass der Benzaldehyd zur Benzoësäure oxydirt wird, im Körper mit Ammoniak zusammentrifft und unter Abspaltung von Wasser Benzamid liefert. Verfasser findet ein Analogon für diese Anhydridbildung in der Entstehung von Harnstoff aus $(NH_4)_2CO_3$ unter Wasserabspaltung, eine Theorie, die in der von ihm nachgewiesenen Bildung von Benzamid eine weitere erwünschte Stütze erhielte.

Zum Beweis fütterte Verfasser noch 30,0 g benzoësaures Natrium und erhielt ebenfalls Benzamid, wenn auch nur in der geringen Menge von 0,1 g.

ziemlicher Menge zurück, welche die Eigenschaften des Allophansäureäthylesters zeigten und nach wiederholter Reinigung einen Schmelzpunkt von 187 ° C. besassen.

Im weiteren Verlaufe der Untersuchungen folgte dem Allophansäureester das Amid der Allophansäure, das

Biuret

$$NH\begin{cases}CO-NH_2\\CO-NH_2\end{cases}$$

welches eigentlich als das Amid der anfangs erwähnten hypothetischen Säure

$$NH\begin{cases}CO\cdot OH\\CO\cdot OH\end{cases}$$

zu betrachten ist.

Da das Biuret zur Darstellung später zu erwähnender Präparate in grösserer Menge Verwendung fand, wurde dasselbe ebenfalls im Laboratorium bereitet nach der Vorschrift von H. Huppert und J. Dogiel[1]). Reiner und getrockneter Harnstoff wurde geschmolzen und bei 150 ° C. nur so lange Chlor eingeleitet, bis die Masse eben teigig geworden war, darauf in dünne Schichten ausgegossen. Nach dem Erkalten wurden die Stückchen fein zerrieben, mit viel kaltem Wasser ausgezogen und von der bei der Darstellung des Biurets stets entstehenden geringen Menge Cyanursäure durch Bleiessig befreit. Das Filtrat wurde mittelst Schwefelwasserstoff entbleit, filtrirt und abgedampft. Beim Erkalten krystallisirten dann schöne Nadeln von Biuret aus, die durch Umkrystallisiren leicht vollkommen rein erhalten werden konnten.

Ein Hund erhielt 5,0 g Biuret. Zur Erkennung etwa unzersetzt durch den Körper in den Harn

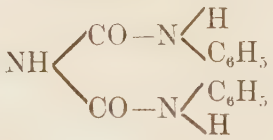
[1]) Zeitschr. f. Chemie (Beilstein, Fittig u. Hübner) 1867, pag. 693.

übergegangenen Biurets diente die bekannte Biuretreaction und, da der Nachweis leicht gelang, wurde auch eine quantitative kolorimetrische Bestimmung vorgenommen. Zu diesem Zwecke war die Herstellung einer Lösung von Biuret in normalem Harn in demselben Verhältniss der gefütterten Menge Biuret zu der gelieferten Harnmenge erforderlich. Die alsdann bei je 10 ccm der beiden Flüssigkeiten angestellte Biuretprobe ergab eine gleich deutliche Reaction für beide, so dass also das Biuret unverändert durch den Organismus und quantitativ in den Harn übergegangen ist.

Am folgenden Tage zeigte der Harn desselben Hundes die Biuretreaction nicht mehr, die Ausscheidung der leicht resorbirbaren Substanz findet also sehr rasch statt.

Von substituirten Biureten wurde zunächst das

Diphenylbiuret



untersucht.

Zur Darstellung dieses nicht käuflichen Körpers wurde die von A. W. Hofmann[1]) mitgetheilte Vorschrift gewählt, indem eine Lösung von Biuret in Anilin nur so lange bei der Siedetemperatur des letzteren erhitzt wurde, als die stürmische Entwickelung von Ammoniak andauerte. (Wird länger erhitzt, so bildet sich nicht Diphenylbiuret, sondern Diphenylharnstoff, welchen Verfasser auch anfänglich erhielt, als die Darstellungsbedingungen nicht genau beobachtet wurden.) Sobald die Schmelze ruhig

[1]) Bericht d. deutsch. chem. Gesellsch. IV., pag. 265.

siedete, wurde sie ausgegossen, der gefärbte Krystallkuchen zerkleinert, verschiedene Male mit verdünnter Salzsäure ausgekocht und schliesslich aus Alcohol umkrystallisirt. Das Diphenylbiuret war nun, wie der Schmelzpunkt (210 ° C.) zeigte, vollkommen rein und löste sich den Angaben von Hofmann entsprechend.

Der erste Fütterungsversuch schlug fehl; bei dem Hunde stellte sich einige Stunden nach dem Eingeben von 7,5 g heftiges Erbrechen ein. Erst nach 4 Tagen wurden demselben Hunde 4,0 g Diphenylbiuret gegeben und von ihm auch gut vertragen. Die Bestimmung der Schwefelsäuren im Harn, der sich frei von Glycuronsäuren zeigte, ergab folgendes Resultat:

Tabelle IV.

Harnmenge.	a. $BaSO_4$ aus der Aetherschwefelsäure.	b. $BaSO_4$ aus der Gesammtschwefelsäure.	$\frac{a}{b} \cdot 100$	Bemerkungen.
1300	0,5928	5,3222	11,14	Normaltag
1355	0,5767	5,1291	11,24	4,0 Diphenylbiuret.

Die Aetherschwefelsäuren waren also nicht vermehrt. In dem nach Ausschütteln des Harns mit Aether und Verdunsten des letzteren verbliebenen schmierigen Rückstande war nichts nachzuweisen.

Gegen diesen Versuch liess sich der Einwand erheben, dass von dem in Wasser so sehr schwer löslichen Diphenylbiuret zu wenig resorbirt worden wäre. Hierüber sollte ein zweiter Versuch Aufschluss geben, und erhielt daher ein Hund 8 Tage lang pro die nur 1,5 g Diphenylbiuret, zusammen 12,0 g. Der während dieser Zeit gelieferte und auf den vierten

Theil eingedampfte Harn wurde mit Salzsäure versetzt und wiederholt mit Aether ausgeschüttelt. Beim Abdestilliren des Aethers zeigten sich an den Wandungen der Retorte weisse, seidenglänzende Krystallnadeln, welche denen des aus reinem Aether auskrystallisirten Diphenylbiurets völlig ähnlich sahen. Nach vollständigem Verdunsten des Aethers blieben aber merkwürdigerweise nur eine geringe Menge langer Nadeln zurück, welche in einer schmierigen Flüssigkeit eingebettet lagen. Dass dieselben etwa aus Harnstoff bestanden, war ausgeschlossen, da sie sich im Wasser nicht lösten. Nach dem darauf vorgenommenen Abspülen mit Alcohol wurden sie öfter aus heissem Alcohol und dann aus siedendem Aether umkrystallisirt, wodurch eigentlich eine ziemlich reine Substanz hätte erzielt werden müssen, allein die Nadeln besassen nicht den Schmelzpunkt des Diphenylbiurets. Ein Versuch, dieselben mittelst Thierkohle umzukrystallisiren, brachte mir leider den Verlust des ganzen noch vorhandenen Materials. Da die Krystallnadeln aber durch concentrirte Salzsäure nicht zersetzt wurden, noch in verdünnter Natronlauge löslich waren und somit die Anwesenheit von Hippursäure ausgeschlossen war, so ist doch wohl als sehr wahrscheinlich anzunehmen, dass in der That Diphenylbiuret vorgelegen hat, dasselbe also unverändert in den Harn übergeht. Die geringe Menge der im Harn wiedergefundenen Substanz erklärt sich mit derselben Wahrscheinlichkeit daraus, dass zu wenig Diphenylbiuret überhaupt zur Resorption gelangt ist. Ist aber die ganze zur Resorption gekommene Menge so gering, so kann man sich auch nicht wundern, dass die Aetherschwefelsäuren nicht vermehrt gefunden wurden. Eine Oxydation im Thierkörper ist natürlich an und für sich doch nicht unmöglich.

Diphenolbiuret.

Um sicher zu gehen in dem Schluss, dass, wie das Biuret selbst, auch die substituirten Biurete unverändert den Körper passiren, schien es von grossem Vortheil zu sein, wenn die Darstellung eines symmetrischen Diphenolbiurets gelang, damit dasselbe in den Bereich der Untersuchungen gezogen werden konnte.

Die Darstellungsweise richtete sich genau nach derjenigen des Diphenylbiurets, indem 10,0 g Biuret und 25,0 g p-Amidophenol in einem Kölbchen im Paraffinbade bei einer Temperatur von etwas über 200 ° C. erhitzt wurden, bis die Masse geschmolzen war. Das hierbei eintretende heftige Entweichen von Ammoniak zeigte an, dass eine Einwirkung stattgefunden. Die Schmelze wurde mit verdünnter Salzsäure mehrere Male ausgekocht und aus heissem Alcohol wiederholt umkrystallisirt. Die so erzielten Krystalle bildeten kleine, theils regelmässige, theils unregelmässige, sechsseitige Blättchen und schmolzen bei 246 — 247 ° C. Die Analysen dieses Körpers ergaben folgende Resultate:

I. 0,2209 Substanz gaben 0,4745 CO_2 [1]),

II. 0,2117 Substanz gaben 0,4564 CO_2 und 0,0989 H_2O,

III. 0,2856 Substanz gaben 0,6166 CO_2 und 0,1204 H_2O,

IV. 0,2581 Substanz gaben 31,8 ccm Stickstoff bei 12 ° C. und 750 mm Barometerstand;

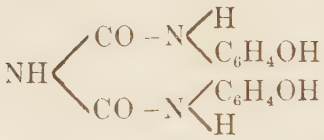
folglich:

Berechnet für $C_{14}H_{13}N_3O_4$:	Gefunden: I.	II.	III.	IV.
C 58,53 %.	58,58.	58,76.	58,85.	—
H 4,58 %.	—	5,10.	4,65.	—
N 14,63 %.	—	—	—	14,41.

[1]) Die Wasserbestimmung ging leider verloren.

Diese Zahlen sprechen dafür, dass das gesuchte

(p-)Diphenolbiuret



vorlag. Das Diphenolbiuret ist in Wasser, Aether und verdünnter Salzsäure unlöslich, löslich in Alcohol. Von Alkalien, Ammoniak und Natriumcarbonatlösung wird es ebenfalls aufgenommen, um nach dem Ansäuern mit Salzsäure unverändert flockig krystallinisch und zwar vollständig wieder auszufallen. In seinem Verhalten gegen Millons Reagens gleicht es der p-Amidosalicylsäure und dem p-Amidophenol, indem es wie diese mit dem Reagens eine gelblichbraune Färbung giebt.

Wegen der Unlöslichkeit des Diphenolbiurets in Wasser wurde dasselbe dem Hunde mit Natriumbicarbonat vermischt gegeben. Um den Einfluss des Natriumbicarbonats auf die Beschaffenheit des Harns festzustellen, sind auch einige Versuche mit diesem allein bei demselben Thiere gemacht worden. Das Natriumbicarbonat wie auch die Mischung von Diphenolbiuret mit Natriumbicarbonat mussten dem Hunde je in 2 Portionen, Morgens und Mittags, gegeben werden, um keine Störungen im Befinden des Thieres hervorzurufen. (Auf einmal gegeben bewirkten beide für sich heftiges Erbrechen.)

Glycuronsäuren waren in dem Harn nicht nachzuweisen. In folgender Tabelle sind die Resultate der Schwefelsäurebestimmungen zusammengestellt.

Tabelle V.

Harnmenge.	a. $BaSO_4$ aus der Aetherschwefelsäure.	b. $BaSO_4$ aus der Gesammtschwefelsäure.	$\frac{a}{b} \cdot 100$	Bemerkungen.
1140	0,4469	4,9841	8,97	Normaltag.
2220	0,5816	10,0432	5,79	25,0 Natriumbicarbon.
2150	0,5676	7,3831	7,68	30,0 Natriumbicarbon.
2220	0,6527	5,4834	11,90	2,0 Diphenolbiuret u. 30,0 Natriumbicarbon.
2675	0,8774	10,6197	8,26	3,0 Diphenolbiuret u. 30,0 Natriumbicarbon.

Die bedeutende Zunahme der Harnmenge ist, wie die zweite und dritte Beobachtung lehren, ohne Zweifel auf das Natriumbicarbonat zurückzuführen. An einer Zunahme der Aetherschwefelsäuren ist nicht zu zweifeln, wie das bei einem Phenol ja auch von vornherein nicht anders zu erwarten war.

Um auf unverändert in den Harn übergegangenes Diphenolbiuret zu prüfen, einerlei, ob darin frei oder in Verbindungen enthalten, wurde derselbe auf etwa den fünften Theil eingedampft und zum Schluss mit Salzsäure stark angesäuert, wodurch auch die Aetherschwefelsäuren gespalten werden mussten. Der so behandelte Harn blieb dann einen Tag stehen, worauf das Ausgeschiedene auf einem Filter gesammelt, mit heissem Wasser mehrere Male ausgewaschen und der Rückstand mit Alcohol ausgezogen wurde. Nach dem Verjagen des Alcohols blieb eine schmierige braune Masse zurück, in der man deutlich Kryställchen erkennen konnte. Zu ihrer Reinigung wurden sie erst mit Wasser, dann mit Aether abgewaschen und schliesslich aus heissem Alcohol nochmals umkrystallisirt. Die sich jetzt aus-

scheidenden Krystalle waren auch noch etwas unrein, indessen zeigten sie durch ihren Schmelzpunkt (240° C.) und die mit Millon's Reagens erzielte gelblichbraune Färbung, dass Diphenolbiuret vorlag.

Weiter führte die Untersuchung zum

Carbonyldiharnstoff

$$NH\begin{matrix}\diagup CO-NH_2\\ \diagdown CO-NH-CO-NH_2\end{matrix}$$

welcher ebenfalls nicht käuflich zu erlangen war und daher selbst bereitet werden musste[1]). Es wurden zu diesem Zwecke verschiedene nicht zu enge Röhren mit je 15,0 g reinsten, fein zerriebenen und bei 100° C. getrockneten Harnstoff beschickt, die Röhren durch eine Kältemischung gut abgekühlt und dem Harnstoff reines flüssiges Phosgen in grossem Ueberschuss zugefügt. Nachdem die Röhren sofort vorsichtig zugeschmolzen waren, wurden sie in ein hohes Wasserbad gehängt und zwei Tage lang bei 100° C. erhitzt. Beim Oeffnen der wiederum stark abgekühlten Röhren entwich neben dem überschüssigen Phosgen Salzsäure, ein Zeichen, dass die Zersetzung vor sich gegangen war. Nach Verdunsten des überschüssigen Phosgens wurden die gebildeten Krystalle fein zerrieben, mit kaltem Wasser öfter ausgelaugt, auf dem Filter ausgewaschen, um die noch anhaftende Salzsäure und leichter löslichen Bestandtheile zu entfernen, und dann aus viel heissem Wasser umkrystallisirt. Der so erhaltene Carbonyldiharnstoff bildete warzenförmig gruppirte Nadeln, welche sich in heissem Wasser sehr schwer lösten und die sonstigen Eigenschaften des Carbonyldiharnstoffs zeigten. Besonders charakteristisch für

[1]) Schmidt, Journal f. pract. Chemie von Kolbe V., pag. 39, 1872.

denselben ist die Wöhler'sche Cyanursäurereaction: Erhitzt man Carbonyldiharnstoff vorsichtig, so entsteht neben Ammoniak Cyanursäure. Letztere liefert in schwach ammoniakalischer Lösung mit schwach ammoniakalischer Kupfersulfatlösung erwärmt einen schönen amethystfarbenen Niederschlag. Carbonyldiharnstoff giebt als solcher diese Reaction nicht.

Ein Hund erhielt 3,0 g Carbonyldiharnstoff. Da dieses Präparat indifferent gegen Säuren ist, wurde der gelieferte Harn sofort mit verdünnter Salzsäure auf ca. 100 ccm eingedampft. Nach 2 Tagen war eine ziemliche Menge kleiner Kryställchen ausgeschieden, welche denen des Carbonyldiharnstoffes in jeder Beziehung glichen. Durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser mit Thierkohle wurden dieselben ganz rein erhalten und konnte nun durch die oben beschriebene Wöhler'sche Reaction ihre Identität mit dem Carbonyldiharnstoff genau festgestellt werden.

Ist auch nur ein Theil des eingeführten Carbonyldiharnstoffes im Harn wiedergefunden worden, so wird man doch wohl nicht fehlgehen in dem Schluss, das Carbonyldiharnstoff überhaupt unzersetzt den Körper passirt. Bei einer so schwer löslichen Substanz wird man immer nur auf die Resorption einer geringen Menge rechnen dürfen und könnte daher die im Harn aufgefundene sich sehr wohl mit dieser decken.

Benzylidenbiuret.

Von substituirten Biureten hatte noch das Aethylidenbiuret, die Trigensäure

$$NH\left\langle\begin{matrix}CO & NH\\ CO & NH\end{matrix}\right\rangle CH \quad CH_3$$

untersucht werden sollen, welches schon vor längerer Zeit von Liebig und Wöhler dargestellt ist[1]). J. Herzig[2]), welcher die Eigenschaften des Aethylidenbiurets einem näheren Studium unterwarf, erwähnt, wie schon Liebig und Wöhler, die geringe Ausbeute und glaubt, dass dieselbe eine weit bessere werden würde, sobald die Methoden der Reinigung vervollkommnet wären, da durch das Kochen mit Salzsäure zu viel Salmiak sich bildet. In dem vorliegenden Falle war trotz verschiedener Versuche die Ausbeute sehr gering, so dass von einer Fütterung und Untersuchung abgesehen werden musste, nachdem ein von Herrn Prof. Dr. Nasse vorgeschlagener Versuch, Aethylidenbiuret durch Einwirkung von Cyansäure, welche aus cyansaurem Kalium durch Eisessig entwickelt wurde, auf Acetaldehyd darzustellen, ebenfalls ohne Erfolg geblieben war.

Erfolgreicher war die letztere Darstellungsmethode bei Anwendung von Benzaldehyd an Stelle des Acetaldehyds. Das Verfahren war folgendes:

100,0 g Eisessig wurden mit 59,0 g Benzaldehyd in einem ziemlich hohen Cylinder gemischt und nach und nach 135,0 g cyansaures Kalium in fein gepulvertem Zustande eingetragen. Unter lebhafter Gasentwicklung (CO_2) und Aufschäumen erstarrte das Gemisch und wurde durch allmäliges Hinzufügen von Eisessig stetig so weit verdünnt, dass eben noch die Masse halbflüssig blieb. Häufiges Umrühren mit einem Glasstabe unterstützte den ganzen Process wesentlich. Nach ca. 8 Tagen wurde, nachdem das Entweichen der Gasblasen aufgehört hatte, Alcohol zugefügt, das Gemisch auf ein Filter gebracht und so lange mit Alcohol ausgewaschen, als der Geruch

[1]) Annalen der Chemie und Pharmacie 59, pag. 296.
[2]) Monatshefte f. Chemie II (1881), pag. 398.

des Benzaldehyds noch bemerkbar war. Der Rückstand wurde dann mit Wasser auf dem Wasserbade erwärmt und nach Abfiltriren des etwa Gelösten mit Alcohol und Wasser nachgewaschen, um noch vorhandene Spuren von Benzaldehyd und Cyanursäure zu entfernen. Schliesslich wurde er sehr vorsichtig im Exsiccator getrocknet, da schon bei 50—60° C. Zersetzung eintrat.

Die Analyse dieses Körpers ergab folgende Resultate:

I. 0,2327 Substanz gaben 0,4776 CO_2 und 0,1005 H_2O,

II. 0,2082 Substanz gaben 0,4266 CO_2 und 0,0945 H_2O,

III. 0,2555 Substanz gaben 46,5 ccm Stickstoff bei 10° C. und 752 mm Barometerstand,

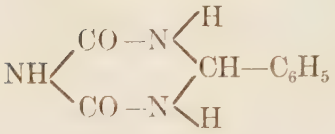
IV. 0,1834 Substanz gaben 33,7 ccm Stickstoff bei 15° C. und 756 mm Barometerstand;

folglich:

Berechnet für $C_9H_9N_3O_2$:		Gefunden:			
		I.	II.	III.	IV.
C	56,54 %.	55,99.	55,91.	—	—
H	4,71 %.	4,77.	5,05.	—	—
N	21,93 %.	—	—	21,56.	21,40.

Dass die Resultate nicht gerade sehr günstige waren, lag einerseits daran, dass die Substanz wegen der ausserordentlich leichten Zersetzbarkeit nicht genügend scharf getrocknet werden konnte, anderseits, dass die letzten Reste des Körpers sehr schwer verbrannten, indem stets 5—6 Stunden zu jeder Verbrennung benöthigt wurden. Indess sprechen die Zahlen mit der grössten Wahrscheinlichkeit dafür, dass das gesuchte

Benzylidenbiuret



entstanden war.

Das Benzylidenbiuret ist von schwach röthlichweisser Farbe, geruchlos und unlöslich in Wasser, Alcohol, Aether, Petroläther, Essigäther, Chloroform und Benzol. Mit verdünnten Säuren und Alkalien erwärmt wird es zersetzt, ebenso bei höherer Temperatur, wobei ein starker Geruch nach Benzaldehyd auftritt. Ein Versuch, es aus Eisessig umzukrystallisiren, lieferte unter Zersetzung Cyanursäure und Benzaldehyd.

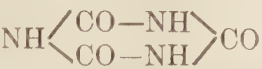
Von diesem Benzylidenbiuret erhielt ein Hund an 3 Tagen je 2,5 g. Aus dem Harn wurden reichliche Mengen von Hippursäure erhalten, ein Zeichen, dass die auch extra corpus beobachtete Zersetzung in demselben ebenfalls vor sich gegangen war. Das andere Spaltungsprodukt, die Cyanursäure, war leider unmöglich aufzufinden, der Grund hierfür wird später bei der Cyanursäure besprochen werden.

So interessant nun eine Untersuchung des Aethylidenbiurets nach diesem gewesen wäre, musste dennoch, wie schon früher erwähnt, davon abgesehen werden. Es würde mindestens gewagt sein, das am Benzylidenbiuret Beobachtete ohne Weiteres auf das Aethylidenbiuret zu übertragen, denn diese beiden Substanzen könnten sich doch sehr verschieden verhalten, wie dies bei Körpern der fetten und aromatischen Reihe öfters beobachtet wird.

Immerhin dürfte es als wahrscheinlich bezeichnet werden, dass alle diese substituirten Biurete mit symmetrischem Eintreten eines zweiwerthigen Molekül-

restes im Körper zerfallen, eine Vermuthung, die ihre Bestätigung finden könnte in den Resultaten einer Untersuchung der Cyanursäure.

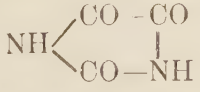
Cyanursäure (Tricarbimid)



Die Cyanursäure ist schon Gegenstand sehr eingehender Versuche seitens F. Coppola's gewesen[1]). Coppola erhielt bei seinen sehr sorgfältigen Untersuchungen eine Harnstoffvermehrung von ca. 10 % und ausserdem einen krystallinischen Niederschlag, welchen er direct als Cyanursäure anspricht, freilich, ohne den strikten Beweis dafür zu liefern. Deshalb wurde auch von mir noch ein Hund mit Cyanursäure gefüttert. Aus dem Harn schieden sich ebenfalls Krystalle ab, die nach dem Umkrystallisiren mit Thierkohle sich durch die Wöhler'sche Reaction als Cyanursäure zu erkennen gaben. Den Angaben Coppola's ist also beizupflichten; es wird sich aber, wie auch Coppola meint, hierbei nur um einen Theil der eingeführten Cyanursäure handeln, während der andere, wahrscheinlich weit grössere Theil, in Harnstoff umgewandelt wird. So erklärt es sich denn auch wohl, dass nach dem Eingeben von Benzylidenbiuret Cyanursäure im Harn nicht aufzufinden war.

Hieran reihte sich die Untersuchung der

Parabansäure (Oxalylharnstoff)



Ein Hund wurde mit 2,0 g Parabansäure gefüttert. Die Harnmenge des Tages betrug 2050 ccm, im

[1]) Rendi conti della. r. accad. dei Lincei, Ser. IV. 5, pag. 668.

Befinden trat keine Aenderung ein. 500 ccm des klar filtrirten Harns wurden zu einer quantitativen Bestimmung etwa aus der Parabansäure entstandener Oxalsäure verwendet. Zu dieser Bestimmung diente die bekannte Neubauer'sche[1]), von Fürbringer und Czapek verbesserte Methode, jedoch wurde, um eine vollkommene Abscheidung des oxalsauren Kalks zu erzielen, diesem statt 24 Stunden 3 Tage Zeit zum Absetzen gelassen. Auf diese Weise wurden nur 0,0025 g Oxalsäure, auf die Gesammtharnmenge berechnet, gefunden, von einer Vermehrung kann also nicht gesprochen werden, da jeder thierische Harn Spuren von Oxalsäure enthält. Um nun etwa in den Harn unverändert übergegangene Parabansäure nachzuweisen und auch zugleich quantitativ zu bestimmen, wurde dieselbe in Oxalsäure übergeführt und zu diesem Zweck 500 ccm desselben klar filtrirten Harns im Wasserbade 2 Stunden lang mit Essigsäure erhitzt. Hier ergab die nach obiger Methode vorgenommene quantitative Bestimmung 0,1422 g Oxalsäure, entsprechend 0,1801 g unveränderter Parabansäure im Gesammtharn. Um mich von der Richtigkeit der letzten Analyse zu überzeugen, erhielt ein kleinerer Hund ebenfalls 2,0 g Parabansäure. Die Harnmenge betrug 910 ccm. Nach zweistündigem Erhitzen mit Essigsäure im Wasserbade ergab diese Bestimmung 0,0594 g Oxalsäure entsprechend 0.0754 g Parabansäure im Gesammtharn.

Es hatte also nach dem Erhitzen mit Essigsäure eine wesentliche Vermehrung der Oxalsäure stattgefunden und es galt nur noch zu entscheiden, ob der Körper, aus welchem die Oxalsäure erhalten

---

[1]) Neubauer und Vogel, Analyse des Harns, 8. Aufl., bearbeitet von Huppert, pag. 288. Wiesbaden 1881.

wurde, wirklich Parabansäure war. Zu diesem Nachweise wurde folgende, für die Parabansäure charakteristische Reaction (Beilstein) angewandt. Von dem mit Chlorcalcium und Ammoniak versetzten und sofort filtrirten Harn wurde ein Theil erwärmt, wobei derselbe sich sofort trübte und unter dem Mikroskope die bekannten Octaëder des Calciumoxalats zeigte, während der andere nicht erwärmte Theil klar blieb. Somit war die Anwesenheit unveränderter Parabansäure im Harn erwiesen.

Diese Versuche und Analysen zeigen klar, dass die Parabansäure nur in sehr geringer Menge den Körper unverändert verlässt, der weitaus grössere Theil aber zerstört wird, indem zunächst wohl Oxalsäure entstehen dürfte, welche wahrscheinlich sofort dann in Kohlensäureanhydrid und Wasser zerfällt.

Ich bin mir hierbei übrigens wohl bewusst, dass die Ansichten über die Verbrennbarkeit der Oxalsäure getheilt sind. So giebt Hammarsten in seinem bekannten Lehrbuche über physiologische Chemie an, dass Oxalsäure vollständig unverändert den Körper passire, welcher Ansicht sich auch G. Gaglio[1]) anschliesst, während P. Marfori[2]), welcher Versuche an sich selbst machte, gefunden hat, dass nur sehr wenig Oxalsäure im Harn unverändert wieder erschien und in den Exkrementen nur Spuren sich zeigten, der grössere Theil also verbrannte.

Fraglich wäre nur noch, ob man nicht überhaupt der im Thierkörper erst entstehenden Oxalsäure eine leichtere Verbrennbarkeit zuschreiben dürfte.

---

[1]) Annal. di chim. e di farmac. IV, Ser. 4, pag. 156—178.
[2]) Annal. di chim. e di farmac. 1890, 12, pag. 250.

Der Parabansäure nahe verwandt ist die

Oxalursäure

$$NH\begin{cases}CO-COOH\\CO-NH_2\end{cases}$$

welche aus ersterer durch Wasseraufnahme entsteht. Von einer Untersuchung dieser Säure, welche sich leicht in Oxalsäure und Harnstoff spaltet, konnte wohl abgesehen werden, weil sie aller Wahrscheinlichkeit nach dieselben Resultate geliefert haben würde, wie die Parabansäure.

Einer genaueren Untersuchung wurde das

Alloxan (Mesoxalylharnstoff)

$$NH\begin{cases}CO-NH\\CO-CO\end{cases}CO$$

unterworfen.

Ein grosser Hund erhielt hiervon 8,0 g, wonach geringer Durchfall eintrat. Die gelieferte Harnmenge betrug 1930 ccm. In diesem Harne konnte weder das Alloxan als solches, noch auch Alloxantin nachgewiesen werden, während derselbe deutlich die Parabansäurereaction zeigte. Da nun Alloxan durch oxydirende Agentien in saurer Lösung in Parabansäure, in alkalischer Lösung in oxal- oder oxalursaure Salze, Harnstoff und Kohlensäureanhydrid verwandelt wird, so wurde zunächst die etwa aus dem Alloxan entstandene Oxalsäure bestimmt durch Behandlung von 400 ccm klar filtrirten Harns nach der bereits erwähnten Neubauer'schen Methode. Hierbei wurde ein Gehalt von 0,1450 g Oxalsäure im Gesammtharn festgestellt.

Zwei weitere Portionen klar filtrirten Harns zu je 400 ccm wurden sodann zur Untersuchung auf Parabansäure 2 Stunden lang mit verdünnter Essigsäure im Wasserbade erhitzt und die dadurch ent-

standene Oxalsäure wie oben bestimmt. Die Resultate waren folgende:

I. 0,6325 g Paraban- und Oxalsäure auf den Gesammtharn berechnet.

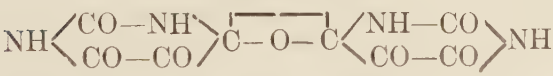
II. 0,6080 g Paraban- und Oxalsäure auf den Gesammtharn berechnet.

Man ersieht hieraus, dass das Alloxan zum weitaus grössten Theil im Körper vollständig zerstört ist und nur ein sehr geringer Theil als Parabansäure bezw. Oxalsäure durch den Harn ausgeschieden ist.

Beim Eindampfen von normalem Harn mit Alloxan wurde ebenfalls kein Alloxan oder Alloxantin wieder erhalten, sondern auch nur Paraban- bezw. Oxalsäure in geringer Menge, was auf eine leichte Zersetzbarkeit dieser Substanz hindeutet.

Mit dem nun folgenden

Alloxantin



das schon der Gegenstand von Untersuchungen durch Wöhler und Frerichs[1]) gewesen (s. u.), habe ich nachstehenden Versuch gemacht.

Ein Hund wurde mit 8,0 g Alloxantin gefüttert; wie beim Alloxan trat auch hier gelinder Durchfall ein. Die Harnmenge betrug 1620 ccm. Alloxantin oder Alloxan waren im Harne nicht nachzuweisen, jedoch zeigte derselbe die Parabansäurereaction. Deshalb wurden 2 Portionen des klar filtrirten Harns zu je 400 ccm mit verdünnter Essigsäure 2 Stunden lang im Wasserbade erwärmt und die aus der Parabansäure entstandene Oxalsäure nach der schon mehrfach erwähnten Neubauer'schen

---

[1]) Annalen d. Chemie u. Pharmacie 65, pag. 335.

Methode bestimmt, wobei folgende Resultate erzielt wurden:

I. 0,2701 g Parabansäure und Oxalsäure, auf den Gesammtharn berechnet.

II. 0,2835 g Paraban- und Oxalsäure, auf den Gesammtharn berechnet.

Da Oxydationsmittel das Alloxantin in Alloxan überführen, so ist mit Sicherheit anzunehmen, dass dieses im Thierkörper ebenfalls stattgefunden, was obige Analysen ja beweisen würden.

Beim Eindampfen mit normalem Harn verhielt sich das Alloxantin analog dem Alloxan.

Wöhler und Frerichs, welche, wie bereits erwähnt, auch Versuche mit Alloxantin anstellten[1]), fanden weder dieses noch Alloxan im Harn, dagegen enthielt derselbe viel Harnstoff, woraus sie mit Wahrscheinlichkeit folgern, dass Alloxantin im Körper in Harnstoff umgewandelt werde.

Dieselben Forscher untersuchten ferner noch das Verhalten der Harnsäure im Organismus. Sie hofften hier wie beim Behandeln der Harnsäure mit Bleisuperoxyd, Harnstoff, Oxalsäure und Allantoin zu erhalten. Eine Harnstoff- und Oxalsäurevermehrung konnten sie allerdings in dem betreffenden Harne nachweisen, jedoch fehlte jede Spur von Allantoin. Fütterungsversuche mit Allantoin verliefen ebenso resultatlos.

Aus den hier mitgetheilten Resultaten ersieht man, dass die oben als „Säureimide" bezeichneten Imide sich verschieden im Thierkörper verhalten. Die grösste Beständigkeit zeigten die Biurete ohne Ringbildung und der Carbonyldiharnstoff, während

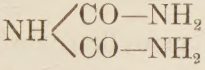
[1]) Annalen d. Chemie u. Pharmacie 65, pag. 635.

alle anderen Körper mehr oder weniger weitgehende Zersetzungen erlitten.

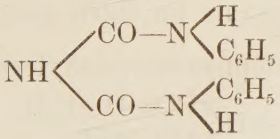
Zur besseren Orientirung soll noch eine kurze Uebersicht der untersuchten Substanzen folgen:

I. Erhalten blieben:

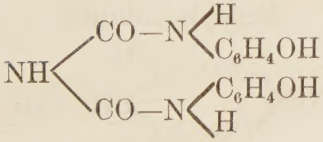
Biuret.



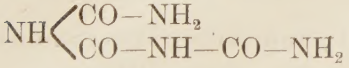
Diphenylbiuret.



Diphenolbiuret.

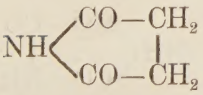


Carbonyldiharnstoff.



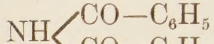
II. Zersetzt sind:

Succinimid.



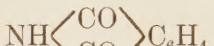
(Bis auf Spuren zerstört.)

Dibenzamid.



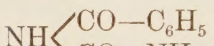
(Als Hippursäure in dem Harn ausgeschieden.)

Phtalimid.



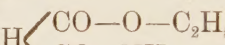
(Bis auf Spuren zerstört.)

Benzoylharnstoff.



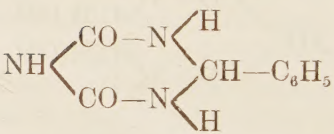
(Als Hippursäure im Harn ausgeschieden.)

Allophansäureaethylester.



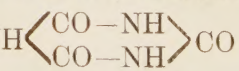
(Vollkommen zerstört.)

Benzylidenbiuret.



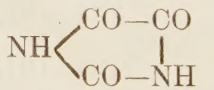
(Als Hippursäure im Harn ausgeschieden.)

Cyanursäure (Tricarbimid).



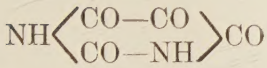
(Bis auf geringe Mengen zerstört.)

Parabansäure.



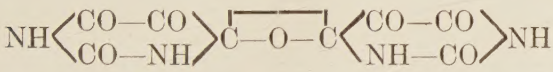
(Bis auf geringe Mengen zerstört.)

Alloxan.



(Zum grössten Theil zerstört, nur in geringer Menge als Paraban- und Oxalsäure im Harn ausgeschieden.)

Alloxantin.



(Zum grössten Theil zerstört, nur in geringer Menge als Paraban- und Oxalsäure im Harn ausgeschieden.)

Zum Schluss sei es mir noch gestattet, meinem hochverehrten Lehrer Herrn Professor Dr. Nasse für die vielfache Anregung und freundliche Unterstützung bei vorstehender, im Institut für Pharmakologie und physiologische Chemie zu Rostock ausgeführten Arbeit, sowie dem Assistenten am Institut, Herrn Dr. Bülow, für das meiner Arbeit entgegengebrachte Interesse meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.